

## 紫叶李果实的化学成分研究

李晓男<sup>1,2</sup>, 陈燕燕<sup>1,2</sup>, 周江韬<sup>1,2</sup>, 王跃飞<sup>1</sup>, 姜苗苗<sup>1\*</sup><sup>1</sup>天津市现代中药重点实验室天津中医药大学, 天津 300193;<sup>2</sup>中药新药研发中心天津国际生物医药联合研究院, 天津 300457

**摘要:** 采用硅胶、ODS 和 Sephadex LH-20 柱色谱等方法对紫叶李果实 95% 乙醇提取物进行提取分离纯化, 运用 IR、UV、<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR、HMBC、HSQC 等波谱学技术鉴定 5 个化合物: 3-*O*-乙酰基原儿茶酸(1)、2(*R*)-羟基丁二酸-1-甲酯(2)、3,3',4,4'-四羟基联苯(3)、 $\beta$ -胡萝卜素(4)和槲皮素(5)。化合物 1~4 是首次从该植物中分离得到, 其中化合物 1 为新天然产物, 并且首次报道化合物 1 的 <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR 数据。对已分离的 5 个化合物进行了 DPPH 自由基清除实验, 结果显示化合物 3,5 具有潜在的抗氧化活性。

**关键词:** 紫叶李; 化学成分; 3-*O*-乙酰基原儿茶酸; 抗氧化

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.08.008

Chemical Constituents of the Fruits of *Prunus cerasifera*LI Xiao-nan<sup>1,2</sup>, CHEN Yan-yan<sup>1,2</sup>, ZHOU Jiang-tao<sup>1,2</sup>, WANG Yue-fei<sup>1</sup>, JIANG Miao-miao<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine,Tianjin 300193, China; <sup>2</sup>Research and Development Center of Traditional Chinese Medicine,

Tianjin International Joint Academy of Biotechnology and Medicine, Tianjin 300457, China

**Abstract:** Five compounds were isolated and purified from the fresh fruits of *Prunus cerasifera* Ehrh f. by column chromatography on silica gel, ODS and Sephadex LH-20. Their structures were elucidated by IR, UV, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, HMBC, HSQC spectral analyses. They were identified as 3-*O*-acetyl-protocatechuic acid (1), 2(*R*)-hydroxybutanedioic acid-1-methyl ester (2), 3,3',4,4'-Tetrahydroxybiphenyl (3),  $\beta$ -daucosterol (4) and Quercetin (5). Compounds 1-4 were isolated from this species for the first time and 1 was a new natural product. The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data of compound 1 were reported as well. All the isolated compounds were evaluated for their *in vitro* antioxidant activities using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assays. Compounds 3 and 5 showed potential antioxidant activities.

**Key words:** *Prunus cerasifera*; chemical constituents; 3-*O*-acetyl-protocatechuic acid; antioxidant activity

紫叶李(*Prunus cerasifera* Ehrh f.)又名红叶李, 櫻桃李, 薔薇科(Rosaceae)李属植物。紫叶李是落叶小乔木, 叶常年紫色, 著名观叶树种。原种产于亚洲西南部, 具有耐湿, 耐寒和一定的耐碱能力, 因我国天津市滨海新区冬季寒冷干燥, 夏季酷热潮湿, 土壤盐分高, 易旱, 所以紫叶李在滨海新区得以广泛种植<sup>[1]</sup>。国内外学者对紫叶李同属植物的化学成分进行了报道, 从它们的叶子、果实、种子等部位分离得到黄酮类、花色素类、香豆素类、新木脂素类等成分<sup>[2-5]</sup>。现在, 随着对紫叶李的不断研究, 已有文献报道紫叶李的叶子具有抗氧化活性<sup>[6]</sup>, 但是对紫叶

李果实的化学成分研究甚少。

本文对紫叶李的新鲜果实进行化学成分研究, 分离得到 5 种化合物, 分别为 3-*O*-乙酰基原儿茶酸(1)、2(*R*)-羟基丁二酸-1-甲酯(2)、3,3',4,4'-四羟基联苯(3)、 $\beta$ -胡萝卜素(4)和槲皮素(5)。化合物 1~4 为首次从该植物中分离得到, 其中, 1 为新天然产物。

## 1 仪器与材料

Bruker PLUS 400 MHz 核磁共振波谱仪; Bruker AVANCE III 600 MHz 核磁共振波谱仪; Waters TQ-S 质谱仪, Waters Xevo G2-S Q-TOF MS 质谱仪; 旋转蒸发仪 RE-52A(上海亚荣生化仪器厂); 薄层层析硅胶 GF-254、柱层析硅胶 200~300 目(青岛海洋化工厂), ODS-A-HG 5~50  $\mu$ m(日本 YMC 公司), Sephadex LH-20 凝胶(瑞士 GE Healthcare 公司),

收稿日期: 2015-04-23 接受日期: 2015-07-03

基金项目: 天津市高等学校科技发展基金计划(20130202); 国家科技重大专项“重大新药创新与发展”(2015ZX09J15102-004-004)

\* 通讯作者 Tel: 86-158-2282-9059; E-mail: miaomiaojiang@126.com

DPPH (2,2-二苯基-苦肼基, Sigma 公司), 维生素 C (天津市北方天医化学试剂厂), 96 微孔板 (美国 Corning 公司); 所用试剂均为分析纯 (天津康科德试剂公司)。

紫叶李果实, 2013 年 9 月采集于天津市滨海新区, 由天津中医药大学吴红华博士鉴定为蔷薇科李属植物紫叶李 (*Prunus cerasifera* Ehrh f.) 的新鲜果实。标本 (B41320090001) 存放于天津中医药大学中药新药研发中心化学与分析部。

## 2 提取与分离

将紫叶李果实在 60 °C 恒温干燥箱中干燥, 称重得 2.0 kg, 粉碎。用 10 倍量的 95% 乙醇冷浸两次, 每次 7 d, 将所得提取液合并过滤, 减压浓缩至无醇味, 得乙醇提取物 800 g。将乙醇提取物用蒸馏水混悬均匀后依次用等体积乙酸乙酯, 萃取 3 次, 合并萃取液, 得到乙酸乙酯部位 85 g。将乙酸乙酯部位经硅胶柱, 以二氯甲烷-甲醇 (v/v, 二氯甲烷, 100:2, 100:3, 100:6, 100:10, 100:25, 100:50, 甲醇) 梯度洗脱得到 8 个馏份 (Fr. 1~8)。Fr. 2 经硅胶柱, 得到亚馏分 Fr. 2.1 和 Fr. 2.2。Fr. 2.1 经 Sephadex LH-20 (二氯甲烷: 甲醇 = 1:1, v/v) 纯化, 得到化合物 2 (5 mg)、3 (10 mg)。Fr. 2.2 经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇 (100:3, v/v) 洗脱得到 Fr. 2.2.1, 经 Sephadex LH-20 (甲醇: 水 = 1:1, v/v) 反复纯化, 得到化合物 5 (3 mg)。Fr. 3 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (100:2, v/v) 洗脱, 得到 Fr. 3.1, 再经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (100:5, v/v) 洗脱, 再经 Sephadex LH-20 (甲醇: 水 = 1:1, v/v) 纯化, 得到化合物 1 (25 mg)。Fr. 4 经硅胶柱色谱和 ODS 纯化, 得到化合物 4 (20 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 1 黄色针状晶体 (甲醇); ESI-MS  $m/z$ : 374 [2M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 195 [M-H]<sup>-</sup>, ESI-MS<sup>2</sup> 给出离子峰 [M-H-60]<sup>-</sup>, 中性失去 60, 提示结构中存在一分子乙酰氧基; HR-ESI-MS  $m/z$ : 195.0294 [M-H]<sup>-</sup> (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>O<sub>5</sub>, 计算值为 195.0293), 确定其分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>, 不饱和度为 5; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ): 292 (0.29) nm; IR (KBr)  $\nu_{\max}$  3210, 2654, 1697, 1603, 1528, 1297, 1098, 943, 766, 640 cm<sup>-1</sup>; 在 <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) 中, 由  $\delta$  7.43 (overlapped),  $\delta$  7.41 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-2) 和  $\delta$  6.80

(1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5) 提示化合物 1 中存在一个 1,3,4-三取代苯环,  $\delta$  2.56 (3H, s, -CH<sub>3</sub>) 提示化合物 1 存在 -CH<sub>3</sub>。在 <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) 中显示 9 个碳原子信号, 其中  $\delta$  176.0,  $\delta$  169.1 为羰基碳原子信号,  $\delta$  150.5,  $\delta$  144.0,  $\delta$  122.7,  $\delta$  121.8,  $\delta$  116.3,  $\delta$  114.7 为芳香区碳原子信号,  $\delta$  29.8 为 -CH<sub>3</sub> 中碳原子信号。从 HMBC 图谱中可以看到 -CH<sub>3</sub> ( $\delta$  2.56) 与 C-1' ( $\delta$  176.0) 相关, 提示结构中含有一个乙酰基; 另外  $\delta$  7.43 (overlapped),  $\delta$  7.41 (H-2) 与  $\delta$  169.1 (C-7) 相关, 说明苯环上 H-1 位置被羧基取代; 通过对比化合物 1 和原儿茶酸标准品的 <sup>1</sup>H NMR 和 <sup>13</sup>C NMR 数据, 发现 C-3 化学位移存在差异, 化合物 1 的 C-3 的比原儿茶酸的 C-3 向高场移动  $\delta$  2.1, 提示乙酰基将原儿茶酸中的 C-3 位的酚羟基乙酰化, 得到的乙酰化产物为化合物 1, 其结构与文献<sup>[7]</sup>一致, 即化合物 1 为 3-O-乙酰基原儿茶酸 (3-O-acetyl-protocatechuic acid)。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$ : 7.43 (overlapped), 7.41 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-2), 6.80 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5), 2.56 (3H, s, -CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$ : 176.0 (C-1'), 169.1 (C-7), 150.5 (C-4), 144.0 (C-3), 122.7 (C-6), 121.8 (C-1), 116.3 (C-2), 114.7 (C-5), 29.8 (C-2')。其化学结构见图 1。

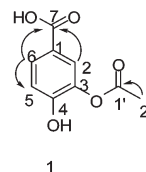


图 1 化合物 1 的化学结构和 HMBC 相关

Fig. 1 Chemical structure and key HMBC correlations of compound 1

化合物 2 无色结晶 (甲醇); 分子式 C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>; ESI-MS  $m/z$ : 149 [M + H]<sup>+</sup>, 147 [M-H]<sup>-</sup>; 在 <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) 中由  $\delta$  4.50 (1H, dd,  $J$  = 7.3, 4.7 Hz) 上偶合常数判断为叔碳上的质子信号。  $\delta$  3.74 (3H, s) 为 -OCH<sub>3</sub> 上的质子信号,  $\delta$  2.67 (1H, dd,  $J$  = 16.2, 7.3 Hz),  $\delta$  2.78 (1H, dd,  $J$  = 16.2, 4.6 Hz) 则为 -CH<sub>2</sub> 信号。<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) 显示 6 个碳原子信号, 其中  $\delta$  175.1,  $\delta$  174.1 为两个羰基碳原子信号;  $\delta$  68.5,  $\delta$  39.8 由化学位移判断为相连的叔碳和仲碳原子信号;  $\delta$  52.6 则为 -OCH<sub>3</sub> 上碳原子信号。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$  4.50 (1H, dd,  $J$  = 7.3, 4.7 Hz), 3.74 (3H, s, -

OCH<sub>3</sub>), 2.78 (1H, dd,  $J = 16.2, 4.6$  Hz), 2.67 (1H, dd,  $J = 16.2, 7.3$  Hz); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$ : 175.1 (C-1), 174.1 (C-4), 68.5 (C-2), 52.6 (-OCH<sub>3</sub>), 39.8 (C-3)。以上数据与文献<sup>[8]</sup>报道基本一致,故化合物**2**鉴定为2(*R*)-羟基丁二酸-1-甲酯(2(*R*)-hydroxybutanedioic acid -1-methyl ester)。

**化合物3** 白色粉末(甲醇);分子式 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>; ESI-MS  $m/z$ : 435 [2M-H]<sup>-</sup>, 217 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$ : 6.97 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.86 (1H, dd,  $J = 2.0, 8.4$  Hz, H-6), 6.79 (1H, d,  $J = 8.4$ , H-5); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$ : 146.3 (C-4, 4'), 145.2 (C-3, 3'), 134.8 (C-1, 1'), 118.9 (C-6, 6'), 116.5 (C-5, 5'), 114.6 (C-2, 2')。以上数据与文献<sup>[9]</sup>报道基本一致,故化合物**3**鉴定为3,3',4,4'-四羟基联苯(3,3',4,4'-Tetrahydroxybiphenyl)。

**化合物4** 白色粉末(甲醇);分子式 C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>; 10% 硫酸乙醇溶液显紫红色;其<sup>1</sup>H NMR 和<sup>13</sup>C NMR 谱与胡萝卜苷标准谱一致,故化合物**4**鉴定为 $\beta$ -胡萝卜苷( $\beta$ -daucosterol)。

**化合物5** 黄色针状晶体(甲醇);分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>; ESI-MS  $m/z$ : 303 [M + H]<sup>+</sup>, 301 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$ : 7.72 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 7.61 (1H, dd,  $J = 2.0, 8.4$  Hz, H-6'), 6.86 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.37 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.16 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$ : 177.4 (C-4), 165.7 (C-7), 162.6 (C-5), 158.2 (C-9), 148.8 (C-2), 148.0 (C-4), 146.3 (C-3'), 137.3 (C-3), 124.2 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.3 (C-5'), 116.0 (C-2'), 104.5 (C-10), 99.3 (C-6), 99.4 (C-8)。以上数据与文献<sup>[10]</sup>报道基本一致,故化合物**5**鉴定为槲皮素(Quercetin)。

## 4 抗氧化活性测定

待测的5个化合物对 DPPH 自由基的清除作用,按文献<sup>[11]</sup>方法测定。待测化合物清除 DPPH 自由基的 IC<sub>50</sub> 值如下表 1 所示。结果显示化合物 3、5 清除 DPPH 自由基的能力与 Vc 相当,与它们的化学结构中含有较多的酚羟基数目有关。

表 1 待测化合物清除 DPPH 自由基的 IC<sub>50</sub> 值

Table 1 IC<sub>50</sub> of DPPH scavenging of the isolated compounds

Compounds	R-1	R-2	R-3	R-4	R-5	Vc
DPPH IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) <sup>a</sup>	320.39 $\pm$ 5.5	>500 <sup>b</sup>	130.29 $\pm$ 3.9	>500 <sup>b</sup>	84.08 $\pm$ 2.3	88.6 $\pm$ 1.9

<sup>a</sup>Data were represented as mean  $\pm$  SD. <sup>b</sup>The IC<sub>50</sub> value of sample was higher than 500  $\mu$ M.

## 参考文献

- Wei J (魏剑), Wang SJ (王素君). The ecological landscaping plants configuration of Tianjin Binhai new area. *Sci Technol Tianjin Agric Forest* (天津农林科技), 2011, 5: 26-28.
- Wu B (吴波), Zhang WN (张维农), Yan JF (严建芳), et al. Optimum extraction technology of kaempferol in *Prunus cerasifera* leaves. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2011, 23: 952-955.
- Koestsu T, Youhei T, Hiroya O, et al. Variation of fragrance constituents in the leaves of *Prunus*. *Biochem Syst Ecol*, 2006, 34: 127-135.
- Farnk SS, Santamour J, Louisse GH, et al. Distribution and inheritance of scopolin and herniarin in some *Prunus* species. *Biochem Syst Ecol*, 1994, 22: 197-201.
- Liu QB, Huang XX, Yan XJ, et al. Neolignans from the seeds of *Prunus tomentosa* (Rosaceae) and their chemotaxonomic interest. *Biochem Syst Ecol*, 2014, 55: 236-240.
- Hu YF (胡迎芬), Meng J (孟洁), Hu BL (胡博璐). An-

- tioxidant activity and stability of the exact of *Prunus cerasifera* Ehrh Cv. *Food Sci* (食品科学), 2002, 23: 274-276.
- Schuster B, Winter M, Herrmann K. 4-*O*- $\beta$ -D-Glucosides of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids-their synthesis and determination in berry fruit and vegetables. *J Biosciences*, 1986, 41c: 511-520.
- He XJ, Liu RH. Cranberry phytochemicals: Isolation, structure elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 7069-7074.
- Fu C (付琛), Chen C (陈程), Zhou GX (周光雄), et al. Chemical constituents from fruits of *Amomum villosum*. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2011, 42: 2410-2412.
- Young HC, Hye KK, Huub JM, et al. NMR metabolomics to revisit the tobacco mosaic virus infection in *Nicotiana tabacum* leaves. *J Nat Prod*, 2006, 69: 742-748.
- Cai YZ, Sun M, Xing J, Luo Q, et al. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci*, 2006, 78: 2872-2888.